

Aus dem Anatomischen Institut
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. med. Milan Pospíšil

Die Entwicklung der Marginalzone
(weiße Substanz) im Rückenmark
der weißen Maus am Tag 11 p. c.

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Peter Inoka
aus Budapest/Ungarn

1976



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548818_0015

Aus dem Anatomischen Institut
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. med. Milan Pospíšil

Die Entwicklung der Marginalzone (weiße Substanz) im Rückenmark der weißen Maus am Tag 11 p. c.

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Peter Inoka
aus Budapest/Ungarn

Referent: Professor Dr. med. Hans-Joachim M e r k e r

Korreferent: Professor Dr. J. Cervós-Navarro



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 1. Dez. 1976

Inhaltsverzeichnis

Seite

1.	Einleitung	1
1.1.	Prinzipien der Rückenmarksentwicklung	1
1.2.	Entwicklung der grauen Substanz	2
1.3.	Entwicklung der weißen Substanz	4
* 1.4.	Problemstellung	5
2.	Material und Methode	11
3.	Befunde	12
3.1.	Lichtmikroskopische Befunde	12
3.2.	Elektronenmikroskopische Befunde	14
3.3.	Quantitative Untersuchungen in der Marginalzone	18
4.	Diskussion	20
5.	Zusammenfassung	25
6.	Literaturverzeichnis	26
7.	Bildanhang	
	Lebenslauf	

1. Einleitung

1.1. Prinzipien der Rückenmarksentwicklung

Bei der Entwicklung des Neuralrohres, aus dem später das Rückenmark und das Gehirn, sowie das gesamte übrige Nervensystem hervorgehen, kommt es zu tiefgreifenden Formveränderungen und zu Zellverschiebungen im Ektoderm oberhalb der Chorda. Von dieser mesodermalen Struktur induziert, erfolgt die Abschnürung eines röhrenförmigen Gebildes aus dem Ektoderm über verschiedene Zwischenstadien: Neuralplatte-Neuralrinne-Neuralrohr. Nach vollzogenem Schluß und beendeter Abschnürung des Neuralrohres sieht der histologische Aufbau etwa folgendermaßen aus: das Epithel dieses Rohres ist ein mehrreihiges, pseudostratifiziertes Epithel und wird, wie neuere Untersuchungen eindeutig bestätigen, von einer einzigen Zellart, der Neuroepithelzelle, gebildet (Sauer, F.C., 1935; Sauer, M.E. & Walker, B.E., 1959; Sidman, Miale & Feder, 1959; Källén & Valmin, 1963; Fujita, 1963). Die Zellen reichen mittels langer Fortsätze vom Zentralkanal bis zur Membrana limitans externa. Lumenwärts sind sie durch "terminal bars" miteinander verbunden (Langman, 1968). Zu diesem Zeitpunkt befindet sich das Neuroepithel ausschließlich in der Proliferationsphase und zeigt in allen seinen Abschnitten, sowohl in den Hirnbläschen, als auch im Rückenmark die typischen, von Sauer (1935) zuerst beschriebenen und später von zahlreichen Autoren (Angevine & Sidman, 1961 & 1962; Langman et al. 1966; Fujita, 1962; Fujita, S. & Fujita H., 1964; Kaufmann S.L., 1966) autoradiographisch genau nachgewiesenen sog. "up and down"-Bewegung seiner Zellkerne. Die DNS-Synthese erfolgt in der äußeren Ventrikulärzone

(S-Phase), während in der folgenden G_2 -Phase die Kerne zum Lumen hin wandern und hier für die Dauer der Mitose breitbasig aufsitzen. Nach der Mitose setzt die erneute Kernbewegung nach außen ein. Dabei treten die Zellen nach Durchlaufen der G_1 -Phase erneut in die S-Phase ein und vollziehen dann entweder wieder eine Mitose oder wandern weiter in die Peripherie. Die äußere Schicht des Neuroepithels wird durch die rasche Zellvermehrung am Lumen und durch die Wanderung der Zellen in die Peripherie zur sog. Mantelzone oder Intermediärzone (Boulder Comitee, 1970). Hier erst beginnen sich die Neuroepithelzellen zu differenzieren, wobei sie ihre Teilungsfähigkeit einbüßen. Wir können diese Zellen als primitive Neuroblasten bezeichnen. Sie haben keine Verbindung mehr zum Lumen und runden sich zum apolaren Neuroblasten ab. Als weiterer Schritt der Differenzierung entwickeln sich zwei Zytoplasmafortsätze an entgegengesetzten Polen, aus denen der Periphere zum Neuriten der Zelle wird, während der zentrale Fortsatz sich schnell zurückbildet. Die Neuriten und die sich zu einem späteren Zeitpunkt entwickelnden Dendriten der multipolaren Neuroblasten bilden eine nervenzellfreie Schicht, die als Marginalschicht oder nach His als Randschleier bezeichnet wird. Im Rückenmark wird diese Schicht später zur weißen Substanz; im Gehirn, durch die Cortexentwicklung bedingt, bleibt sie rudimentär (Starck, 1974).

1.2. Entwicklung der grauen Substanz

In dem Moment, in dem die ersten Neuroepithelzellen nach erfolgter Teilung in die Peripherie zu migrieren beginnen, können wir von der Anlage der grauen Substanz sprechen. Die sich aus dem proliferierenden Neuroepithel gelösten Zellen bilden eine klar unterscheidbare

selbständige Schicht, die Intermediärzone (Boulder Comitee, 1970). Hier erfolgt die Differenzierung zur Nervenzelle.

Die primitiven Neuroblasten unterscheiden sich wenig von den Neuroepithelzellen. Lichtmikroskopisch ist das erstmalige Auftreten von argentophilen Granula und feinen Fibrillen in den Zellen das erste Zeichen eines Unterschiedes (Ramon Y Cajal, 1911; Windle & Austin, 1936; Windle & Baxter, 1936). Elektronenmikroskopisch ist das Vorhandensein von Mikrotubuli und feinen Filamenten in den Perikarya charakteristisch für die Neuroblasten. In den Neuroepithelzellen finden sich nur spärliche Mikrotubuli (Lyser, 1968). Während der Fortsatzbildung finden sich Mikrotubuli im Perikayon (Lyser, 1968). Außerdem sind noch folgende, für die Zelldifferenzierung kennzeichnende Veränderungen der Zytoplasmazelektstruktur vorhanden:

1. Auf- und Ausbau des endoplasmatischen Retikulums der Nervenzellen
2. die Vergrößerung des Golgi-Apparates,
3. die Vermehrung der Mitochondrien (Meller et al., 1966).

Für die Reifung der Nervenzelle ist im späteren Stadium das Fortsatzwachstum am meisten charakteristisch. Über die bipolaren und unipolaren Stadien entwickelt sich die Zelle zum multipolaren Neuron. Dementsprechend ändert sich das histologische Bild. Die Neuropilentwicklung ist ein Ausdruck der Fortsatzproliferation und der Verzweigung der neuronalen und der sich inzwischen auch in Reifung befindenden glösen Elementen. Das epitheliale Arrangement bleibt in allen Entwicklungsphasen erhalten, es existiert ein extrazellulärer Raum von ca. 200 Å Weite (wechsler, 1966). Durch die Fortsatzentwicklung kommt es zur Abnahme der "Neurodensity".

Die Differenzierung der Neuroblasten erfolgt nicht einheitlich, wie die autoradiographischen Untersuchungen von Wenger (1950), Fujita (1964), Langman und Haden (1970) und Nornes und Das (1972) zeigen. Verschiedene Neurone entwickeln sich zu verschiedenen Zeiten. Es existiert ein topographisches und zeitliches Entwicklungsmuster, das charakterisiert ist durch ein ventro-dorsales und rostro-caudales Reifungsgefälle (Coghill, 1924; Kingsbury, 1926; Hamburger, 1948), d.h., die ersten Neurone, die sich entwickeln, sind die Motoneurone des Vorderhorns.

Erst dann entstehen aus dem mehr dorsal gelegenen Neuroepithel weitere Neurone, die medial und dorsal der Motoneurone lokalisiert sind. Langman und Haden (1970) haben dieses Entwicklungsmuster beim Hühnchen, Nornes und Das (1972) bei der Ratte mit Hilfe der Autoradiographie untersucht und dargestellt.

1.3. Entwicklung der weißen Substanz

Durch die Fortsatzproliferation der sich differenzierenden Neuroblasten erscheint eine neue Schicht im Neuralrohr, die an die Intermediärzone angrenzt und die von His als Randschleier bezeichnet wurde und in der neuen Nomenklatur Marginalzone heißt (Boulder Comitee 70).

Beim Hühnchen erscheint diese Schicht in 2 - 3 Tage alten Embryonen bilateral symmetrisch in den ventralen und lateralen Abschnitten (Wechsler, 1966), bei der Maus am Tag 10 p.c.

Anfangs besteht diese Schicht aus den embryonalen Fortsätzen der primitiven Neuroblasten, die in Bündelformation parallel zur Längsachse des Neuralrohres angeordnet sind und aus radiären Fortsätzen der

Neuroepithelzellen. Um das Neuralrohr befindet sich eine kontinuierliche, ca. 300 - 400 Å breite Basalmembran. Zwischen Basalmembran und den embryonalen Fortsätzen wird eine schmale Glia marginalis primitiva ausgebildet (Wechsler, 1966). In den frühen Stadien ist der Randschleier frei von Zellkernen, die erst mit der Gliaentwicklung auftreten. Das Gewebe ist epithelartig organisiert, die Weite des Interzellularraumes beträgt durchschnittlich 200 Å (Bleichschmidt, 1960; Wechsler, 1966). Die Morphologie der früh-embryonalen Fortsätze wird charakterisiert durch das Auftreten von Mitochondrien, Ribosomen, Vesikeln, Mikrotubuli und Neurofilamenten. Nach diesen Kriterien werden auch axonale, dendritische und Neuroepithelzellfortsätze voneinander unterschieden (Skoff und Hamburger, 1974).

Mit dem Auftreten der Neuroglia erscheinen Zellkerne in der Marginalschicht, die vorwiegend zu Astroblasten und vereinzelt auch zu Oligodendroblasten gehören (Wechsler, 1966; Bergquist, 1968; Hinds, 1971). Die embryonalen Fortsätze, die anfangs nur eine grobe Bündelung erhielten, werden dann durch Gliafortsätze voneinander getrennt. Die Oligodendroglia bildet die Markscheiden in den perinatalen und postnatalen Stadien (Maturana, 1960; Peters, 1960/62) in Analogie zu den Schwann'schen Zellen im peripheren Nervensystem (Luse, 1956; De Robertis et al., 1958). Während aber eine Schwann'sche Zelle im peripheren Nervensystem nur die Myelinbindung eines Axons besorgt, ist ein Oligodendrozyt im ZNS für mehrere Axone zuständig.

1.4. Problemstellung

Bei der Durchmusterung der Literatur wird deutlich, daß mit modernen morphologischen Methoden erhobene Befunde über die Randschleierent-

wicklung bei Maus und Ratte nicht existieren (Wechsler, 1966 a/b; Bergquist, 1968).

Die bisher aufgrund elektronenmikroskopischer Befunde entwickelten Vorstellungen beruhen weitgehend auf Untersuchungen an Hühnchen. Diese Lücke in unserem Wissen wird um so deutlicher, wenn man versucht, durch embryotoxische oder teratogene Substanzen Effekte am sich entwickelnden Nervensystem zu erzielen. Voraussetzung für derartige Untersuchungen sind deshalb Kenntnisse dieser Vorgänge in der normalen Entwicklung.

In diesem Zusammenhang sind einige Einzelprobleme besonders interessant. So ist die Elektronenmikroskopie wegen der Möglichkeit, Einzelaxone nachweisen zu können und damit den Beginn der Randschleierbildung exakt zu bestimmen, besonders für Untersuchungen geeignet. Der Beginn der Aussproßung von Axonen und Dendriten im peripheren Bereich und damit die präzise Bestimmung des Zeitpunktes der Randschleierbildung ist deshalb morphologisch möglich. Gerade die exakte zeitliche Determinierung von Entwicklungsabschnitten ist Voraussetzung für die Planung von Experimenten, die eine Störung des Fortsatzwachstums zum Ziele haben. Darüberhinaus sind noch einige wichtige Probleme trotz Vorarbeiten an anderen Tierarten noch nicht gelöst oder noch umstritten. Als Grundlage eines Vergleiches kann dabei vorwiegend auf Untersuchungen am Hühnchen, zu einem geringen Teil auf die an der Ratte und am Hamster zurückgegriffen werden (Wechsler, 1966 a/b; Bergquist, 1968; Bunge, R.P. et al., 1965; Leyser, 1971; Shimada and Langman, 1970, Tennyson, V.M., 1970).

In diesen Arbeiten wird die Feinstruktur des sich entwickelnden Randschleiers beschreibend dargestellt, so daß die Grundvorgänge der Fortsatzentwicklung gut bekannt sind. Allerdings bleiben noch einige Fülle von Problemen offen, die aber auch zur Deutung und zum Verständnis der Vorgänge an der Ratte und Maus von großer Bedeutung wären. Hier wären zu nennen:

1. das Verhalten der marginalen Glia während der Entwicklung des Randschleiers.
2. das morphologische Verhalten der Fortsätze selbst und ihre räumliche Beziehung zu Gliazellen während dieser Zeit.
3. die Darstellung eines ventro-dorsalen und carnio-caudalen Reifungsgefälles bei der Bildung und Reifung des Randschleiers und die vergleichende Wertung dieser Gradienten bei den einzelnen Tierarten, hier speziell bei der Maus.

zu 1.: Die Rolle der marginalen Glia in der Frühentwicklung des ZNS ist lange Zeit nicht genügend beachtet worden. Der wahrscheinliche Grund dafür sind die zahlreichen autoradiographischen Untersuchungen, die behaupten, daß die gliösen Elemente sich viel später entwickeln als die Neurone. In neuerer Zeit betonen mehrere Autoren aufgrund ihrer in vivo-Experimente die Rolle der Glia bei der Leitung der Neurone während ihrer Wanderung (Rakic, 1971, 1972; Rakic and Sidman, 1973; Peters and Feldman, 1973). Die Arbeiten von Guillery et al. (1970) sowie von Grainger und James (1970), die bei in-vitro-Experimenten die Beziehung zwischen Glia und wachsenden Neuriten untersucht haben, heben die Wichtigkeit der Gliazellen für das Auswachsen der Neuriten hervor.

Interessant ist in diesem Zusammenhang auch die Arbeit von Henrikson und Vaughn (1974), die eine Beteiligung - zumindest in den relativ frühen Phasen (E10 und E12) - von neuroepithel-ähnlichen Zellen am Aufbau der marginalen Glia darstellen und diskutieren. Solche Zellen müßten mit langen Fortsätzen sowohl in der marginalen Glia als auch am Ventrikel verankert sein. Für diese Vorstellung sprechen die Befunde von Ramon Y. Cajal (1952/60), die auch Wechsler (1966) und Henrikson (1974) erwähnen. Mit lichtmikroskopischen Versilberungsmethoden konnte Ramon Y. Cajal tatsächlich den Nachweis einer Verankerung von langgestreckten Zellen sowohl an der inneren als auch an der äußeren Oberfläche führen. Die Entwicklung der marginalen Glia allein aus diesen oder aber auch aus anderen Zellen - z.B. Astrozyten - wäre zu diskutieren.

zu 2.: Die Prinzipien der Entwicklung zentraler Nervenfasern gelten als geklärt. Die ersten elektronenmikroskopischen Beiträge stammen von Luse (1956) sowie von De Robertis, Gerschenfeld und Wald (1958). Hauptsächlich geht es aber den Autoren um die Markscheidenbildung. Maturana (1960) und Peters (1960/62) konnten dann auch den prinzipiellen Mechanismus der Markscheidenbildung im ZNS im Sinne von Geren und Raskind (1953) sowie von Geren (1954), die die Markscheidenbildung am Nervus ischiadicus des Hühnchens untersucht haben, bestätigen. Gaze und Peters (1961) wiesen nach, daß die frühembryonalen Axone anfangs in Bündeln wachsen und erst später durch Gliafortsätze getrennt werden. Wechsler (1966) beschäftigt sich sehr einge-

hend in seinen Arbeiten über das Rückenmark von Hühnerembryonen mit dem Aufbau der sich entwickelnden weißen Substanz. Mit elektronenmikroskopischen Methoden beschreibt er den epithelialen Strukturaufbau des Randschleiers, der durch embryonale Fortsätze gebildet wird. Die radiären Elemente deutet er in Anlehnung an Ramon y Cajal (1952) als polare Glioblasten. Einen interessanten Aspekt beim Wachstum der embryonalen Fortsätze bringen Nornes und Das (1972) in ihrer Arbeit. Sie meinen, daß das Muster der Fortsatzentwicklung durch Zwischenräume (Interfaces) bestimmt wird, die zwischen Neuronengruppen, die zu verschiedenen Zeiten ausdifferenziert sind, existieren. Im Sinne der "contact guidance"-Theorie von Weiss (1941) sollen in diesen Zwischenräumen Pionierfasern wachsen, an denen sich die sich später entwickelnden Fortsätze orientieren (Nach dem Prinzip der selektiven Bündelung von Weiss (1941)). Damit erklären sie auch die Schichtung der Fasern in den aufsteigenden Fasersystemen des Rückenmarkes (Sherrington, 1903; Poirer, 1955), Yoss (1922, 1953). Rakic (1971) betont die Rolle der Astroglia bei der Wanderung der Neuroblasten während der frühembryonalen Entwicklung des Cerebellums.

Henrikson und Vaughn (1974) beschreiben im embryonalen Rückenmark Synapsen zwischen Axonen und Gliafortsätzen, die vornehmlich frühembryonal (E11-E14) vorhanden sind und später verschwinden. Danach sollen diese Synapsen eine Art Kletttervorrichtung darstellen. Die embryonalen Axone können noch nicht zwischen Neuronenfortsätzen und Glia unterscheiden. Guillery et al. (1970) bemerken, daß in-vitro die neuronale Fortsatzentwicklung im Beisein von Glia länger über-

lebt. Skoff und Hamburger (1974) analysieren und beschreiben gründlich die axonalen und dendritischen Wachstumskolben im embryonalen Rückenmark von Hühnern.

zu 3.: Die zahlreichen Arbeiten, die sich mit der Entwicklung des Rückenmarkes beschäftigen, erwähnen immer wieder ein rostro-caudales und ein ventro-dorsales Reifungsgefälle (Kingsbury, 1926; Martin, 1965; Langman, 1970; Smart, 1972; Bergquist, 1968; Nawar et al., 1974).

Die mitotische Aktivität der Ventrikulärschicht ist in der Flügelplatte noch voll im Gange, während sich in der Grundplatte schon die ersten Motoneurone entwickeln (Lyser, 1964). So erscheint auch die Marginalschicht zuerst in der Grundplatte. Ebenso ist ein Unterschied in der Entwicklung zwischen den zervikalen und lumbalen Ebenen festzustellen. Während zervikal keine mitotische Aktivität mehr in der Grundplatte besteht, sind lumbal noch etliche Mitosen zu erkennen.

Dieses zeitlich und örtlich verschiedene Entwicklungsmuster wurde zwar bemerkt und festgehalten, aber in keiner der Arbeiten wurde eine genaue quantitative Analyse auf elektronenmikroskopischer Basis durchgeführt.

2. Material und Methode

Mäuseembryonen des Stammes NMRI wurden am Tag 11 p.c. (Tag der Kopulation = Tag 0) dem Muttertier durch Schnittentbindung entnommen und in Karnovski-Lösung fixiert. Nach Nachfixierung in 1% Osmiumsäure und Dehydrierung in der aufsteigenden Acetonreihe erfolgte die Einbettung in Micropal. Von einem Embryo wurden dann quer zur Längsachse des Rückenmarkes stufenweise jeweils Semidünn- und Dünnschnitte am LKB-Ultratom hergestellt. Insgesamt wurden in 22 Ebenen Schnitte angefertigt. Die Semidünnschnitte (0,5-1 μm) wurden mit Giemsa-Lösung gefärbt und lichtmikroskopisch ausgewertet. Die Nachkontrastierung der Dünnschnitte erfolgte mit Uranylacetat und Reynolds Blei. Von drei charakteristischen Ebenen (Medulla-cervikal, thorakal und lumbal) wurden die Dünnschnitte unter dem Zeiss EM 10 Elektronenmikroskop betrachtet und fotografiert. Die negativ-Bildplatten mit konstanter und einheitlicher Vergrößerung wurden mit einem Mikrofilm-Lesegerät (TS-Systematik 3K der Fa. Tausch & Simon KG Stuttgart) mit feststehender 8,5-facher nachvergrößernder Optik auf einen Bildschirm, auf dem ein Punkt-Strich-Raster aufgezeichnet war, (Abb. 28) projiziert und ausgewertet. Die genaue Beschreibung der quantitativen Auswertung erfolgt in Abschnitt 3.

3. Befunde

Zum Zeitpunkt der Untersuchung, am Tag 11, stellt sich im licht-mikroskopischen Bild der Mäuseembryo etwa folgendermaßen dar: die Somiten sind im cervicalen Bereich nicht mehr zu sehen, man erkennt sie aber noch im caudalen Teil. Die Linsenblase ist schon geschlossen. In der Schilddrüsenanlage erkennt man das geschlossene Lumen des Ductus thyreoglossus. Die primären Bronchi haben sekundäre Äste entwickelt (Bronchi lobares). Das Herz stellt sich als gebogener, noch ungeteilter Epithelschlauch dar. Im dorsalen Meso ist die epitheliale Verdickung als Milzanlage zu erkennen. In der Leber sind die breiten Leberbalken durch weite Sinusoide getrennt, die mit gekernten Erythrozyten gefüllt sind. Die Nierenanlagen der ersten beiden Generationen lassen sich als epitheliale Röhrenstrukturen in der Plica urogenitalis bereits nachweisen. Der Wolff'scher Gang endet blind in der noch geschlossenen Kloake. Die Extremitäten zeigen noch keine Gliederung in die verschiedenen Abschnitte. An den oberen Extremitäten beginnt sich die Handplatte gerade auszubilden, die unteren Extremitäten befinden sich im typischen Knospenstadium.

Das Neuralrohr selbst ist schon geschlossen. Im rostralen Bereich haben die Gehirnbläschen eine klare Unterteilung erhalten. Das Rückenmark zeigt eine Fülle morphologischer Zeichen von ablaufenden Proliferations- und Differenzierungsvorgängen. Die dadurch geprägten Veränderungen von der einfachen Form des frühen Neuralrohres sind sowohl in einer Querschnittsebene, in Bezug auf dorsale bzw. ventrale Lokalisation, als auch segmentabhängig, unterschiedlich.

Aus den weitgehend lückenlosen Schnittserien wählten wir, wie im Kapitel 2. bereits beschrieben, drei Ebenen aus, die dem Übergangsbereich Medulla-Cervikalbereich, dem Thorakalbereich und dem Lumbosacralbereich entsprechen.

3.1. Lichtmikroskopische Befunde

A. Medulär-cervikale Übergangszone (Abb. 1-4):

Das Rückenmark erscheint oval. Der Zentralkanal ist im Bereich der Grundplatte obliteriert, im Flügelplattenbereich ist er noch ein Spalt offen. Der Wandaufbau des Neuralrohres zeigt eine typische Dreischichtung: vom Lumen des Zentralkanals ausgehend findet sich, die an den säulenförmig angeordneten Zellen erkennbare Ventrikulärzone, daran anschließend die Intermediärzone, in der die Zellen ungeordnet erscheinen; es folgt schließlich die dünne zellfreie Marginalzone. Die Zellen erscheinen durchwegs homogen in der Form mit runden bis ovalen Kernen. In der Ventrikulärzone sind die sog. ventrikulären Mitosen zu erkennen (Abb. 3). Beim Übersichtsbild, dem Betrachter sofort auffallend, erkennt man das unterschiedliche Verhalten der Schichten in der dorsalen Flügelplatte einerseits, sowie in der ventralen Grundplatte andererseits (Abb. 1). Während in der Flügelplatte fast die gesamte Wand des Neuralrohres von der Ventrikulärschicht eingenommen wird, sieht man in der Grundplatte eine Verschmälerung dieser Zone bis auf wenige Zell-Lagen und eine gleichzeitige Verbreiterung sowohl der Intermediär- als auch der Marginalzone. In allen Schichten sind Kapillaren vorhanden.

B. Thorakalbereich (Abb. 5-8):

Das Neuralrohr hat in seinem gesamten Umfang abgenommen. Es erscheint birnenförmig, schmaler dorsal als ventral. Der Zentralkanal ist bis

auf einen tropfenförmigen Spalt unter der Deckplatte obliteriert. Die Dreischichtung der Wand ist, wie im vorigen Abschnitt beschrieben, erhalten. Auffällig ist aber, daß die Marginalzone allgemein in ihrer Ausdehnung abgenommen hat und im Grundplattenbereich ca. halb so breit ist wie im vorigen Abschnitt, im Gegensatz zur Ventrikulärschicht, die hier viel breiter erscheint. Entsprechend hat auch die Intermediärzone im Grundplattenbereich abgenommen.

C. Lumbo-sacralbereich (Abb. 9-12):

Im Gegensatz zu den beiden vorigen Anschnitten ist in dieser Anschnittsebene die oben beschriebene Dreischichtung nicht klar erkennbar. Die säulenförmige Struktur der Ventrikulärschicht reicht bis auf klar umschriebene Bezirke in der Flügel- und Grundplatte, die von der Marginalschicht ausgefüllt werden, bis zur äußeren Grenzmembran (Abb. 10). Die Intermediärschicht ist lichtmikroskopisch nicht abgrenzbar.

3.2. Elektronenmikroskopische Befunde

A. Abgrenzung zwischen Mesenchym und Neuralrohr:

Diese Grenze soll hier beschrieben werden und in den späteren Ebenen nicht berücksichtigt werden.

Um das Neuralrohr existiert eine kontinuierliche Basalmembran (Abb. 17); sie ist etwa 300-400 Å dick und läuft parallel zu der nach außen liegenden Zellmembran der peripheren Neuralrohrzellen. Der sich anschließende mesenchymale Interzellularraum ist elektronenoptisch weitgehend leer, nur in der Nähe der Basalmembran finden sich isoliert und völlig regellos verlaufende kollagene Filamente oder Fibrillen. Nur selten einmal kommen zu diesem Zeitpunkt der embryonalen Entwicklung kleine Bündel kollagener Fibrillen vor (Abb. 17). Auf weiten Strecken sind

die umgebenden Mesenchymzellen in einiger Entfernung vom Neuralrohr lokalisiert und reichen höchstens mit dünnen Fortsätzen vereinzelt an die Basalmembran heran; nur an den Stellen, wo Kapillaren nachweisbar sind, können die Endothelzellen (bzw. ihre Basalmembran) der Basalmembran des Neuralrohres sehr nahe kommen oder sich sogar ihr breitbasig anlagern (Abb. 25). Aber nicht nur die Endothelzellen können diesen engen räumlichen Kontakt zeigen, sondern auch die begleitenden adventitia-ähnlichen Mesenchymzellen (Abb. 21).

•

B. Morphologie der Neuroblasten

Lichtmikroskopisch erscheinen die Neuroblasten deutlich blasser gefärbt als die undifferenzierten Neuroepithelzellen (Abb. 3).

Im elektronenoptischen Bild sieht man die großen ovalen Kerne der Neuroblasten mit verstreutem Chromatin entlang der Kernmembran (Abb. 15). Diese randständige Position des Kernchromatins zeigen nur die sich differenzierenden Nervenzellen, das ausdifferenzierte Neuron läßt dies vermissen. Das ist ein wichtiges Unterscheidungsmerkmal zwischen Neuroblasten und Neuronen. Ebenso ist ein Verlust von Kernchromatin im Vergleich zu Neuroepithelzellen bei den Neuroblasten festzustellen. Das wichtigste Merkmal der sich differenzierenden Neuroblasten ist die rasche Zunahme des Cytoplasmas und der Zellorganellen. Es finden sich schon reichlich Mitochondrien, ein gut ausgebildetes rauhes endoplasmatisches Retikulum und Golgi-Apparate erscheinen besonders prominent an der Basis der Dendriten und Axone (Abb. 16). Ribosomen finden sich in wachsender Anzahl, sowohl frei als auch am rauhen endoplasmatischen Retikulum. - Ein gut ausgebildetes rauhes endoplasmatisches Retikulum ist charakteristisch für Neuroblasten (Abb. 15 und 16), bei undifferenzierten Neuroepithelzellen ist es nicht vorhanden.

C. Morphologie der embryonalen Nervenzellfortsätze

Bei der Betrachtung des Randschleiers im Elektronenmikroskop wird deutlich, daß die mit dem Lichtmikroskop erkennbaren weiten Gewebsspalten nicht existieren. Die meisten embryonalen Fortsätze liegen unterhalb des Auflösungsvermögens des Lichtmikroskopes. So ist der Aufbau des embryonalen Rückenmarkes bis auf wenige Ausnahmen (siehe

Diskussion, s. Abb 21 u. 22) bezüglich des extrazellulären Raumes, dem entwickelten ZNS ähnlich: es existiert nur ein 100 - 200 Å weiter Extrazellulärraum (Abb. 20). In allen Ebenen des Rückenmarkes finden sich jedoch noch regelmäßig Interzellularlücken, deren Weite bis zu 1 µm betragen können. Sie sind ausschließlich in der Flügel- und Seitenplatte lokalisiert (Abb. 21 u. 22). Es handelt sich um Erweiterungen, die jeweils nur zwischen einigen Zellen zu finden sind. Solche Areale kommen in einer Schnittebene mehrfach vor, haben jedoch untereinander keinen Zusammenhang. In der Grundplatte sind diese Interzellularlücken nicht vorhanden.

Am Tag 11 p.c. verlaufen die meisten Fortsätze parallel zur Längsachse des Rückenmarkes und erscheinen in Bündelformationen. Ihr Kaliber beträgt 0,3-1,3 µm. Sie enthalten in ihrem Axoplasma Mitochondrien, Mikrotubuli, Mikrofilamente und vereinzelt einzelne Ribosomen. Man erkennt in den Schnitten vereinzelt kolbige oder fingerförmige Auftreibungen der Fortsätze mit reichlich Vesikeln als Inhalt. Es handelt sich dabei um die Wachstumskolben der Fortsätze (Abb. 17). Ob sie axonalen oder dendritischen Ursprungs sind, kann bei dieser Untersuchung nicht entschieden werden.

D. Marginale Glia

Dicht unter der äußeren Basalmembran und an diese angrenzend erscheinen plumpe, in ihrer Ausdehnung weit größere cytoplasmatische Ausläufer als die der üblichen Fortsätze (Abb. 23). Manchmal kann man sie bis in die Intermediärschicht verfolgen (Abb. 20). Sie enthalten Mitochondrien, Ribosomen und optisch leere Vesikel (Abb. 20). Sie bilden die marginale Glia. Solche Zellausläufer sind auch beim Auswachsen der Axone aus dem Rückenmark in die Peripherie regelmäßig zu finden, wobei sie immer vorhutartig den Axonen vorangehen (Abb. 17).

E. Verlauf des Randschleiers

Die Ausdehnung des Randschleiers ist nicht in allen Querschnittsebenen gleich. In der medulla-cervicalen Ebene erscheint er bereits dicht unterhalb der Deckplatte im Flügelplattenbereich und nimmt an Breite in Richtung Grundplatte kontinuierlich zu. In der Flügelplatte ist er ca. 5 μm , in der Grundplatte dagegen ca. 40 μm dick (Abb. 1-4). Vielfach verlaufen die darin enthaltenen Nervenzellfortsätze quer zur Längsachse des Rückenmarkes und ihre durchschnittliche Dicke beträgt 1,5 bis 2 μm (Abb. 18).

In der thorakalen Ebene (Abb. 5-8) ist diese marginale Zone zwar auch kontinuierlich von dorsal nach ventral vorhanden, aber eindeutig schmaler als in der medulla-cervicalen Ebene; im Grundplattenbereich beträgt sie nur noch ca. 25 μm . Die Axone verlaufen hauptsächlich parallel zur Längsachse und ihr Querdurchmesser ist im Durchschnitt unter 1 μm (Abb. 20).

In der lumbo-sacralen Ebene ist der Randschleier nicht mehr von dorsal nach ventral kontinuierlich vorhanden. Er erscheint nur in einem kleinen Bezirk in der Flügelplatte und in der Grundplatte ist er nur noch ca. 10 μm breit (Abb. 9-12). Die Axone verlaufen in der Längsrichtung des Rückenmarkes und ihr Kaliber ist durchschnittlich unter 1 μm (Abb. 23).

Die Ausdehnung des Randschleiers nimmt somit kontinuierlich von ventral nach dorsal und von cranial nach caudal ab.

3.3. Quantitative Untersuchungen in der Marginalzone

Die Fortsatzbildung ist ein wichtiges Charakteristikum für die Differenzierung der Nervenzellen. Sie geht mit einer Vergrößerung der spezifischen Oberflächen (Membranen) einher. Diese spezifischen Oberflächen können im elektronenmikroskopischen Bild durch stereometrische Methoden gemessen werden. Ziel dieser quantitativen Untersuchung ist die Messung dieser spezifischen Oberflächen in verschiedenen Ebenen des Rückenmarkes, um das zeitliche und örtliche Entwicklungsmuster der normalen Rückenmarksentwicklung bei der Maus numerisch festzuhalten.

Methode:

Morphometrisch wurde nach dem Prinzip der Oberflächenmessung mit Hilfe der Strichplatte nach Weibel verfahren (Weibel 67).

Wenn in einem Objekt Strukturen mit einer gut definierten Oberfläche enthalten sind, so werden die Konturen dieser Oberfläche im Schnitt als geschlossener Linienzug sichtbar. Dabei ist die Länge dieses Linienzuges statistisch gesehen ein Maß für die Oberfläche der Struktur am totalen Testvolumen.

Nach Saltykov (1958) gilt:

$$(1) \quad S_{Vi} = \frac{4}{\pi} \cdot B_{Ai}$$

Nach Henning (1963) kann die Berechnung von B_A auf eine Zählung der Durchstoßpunkte von Testlinien mit den Oberflächenkonturen der Struktur i , bezogen auf den Probeanschnitt A , reduziert werden:

$$(2) \quad B_{Ai} = \frac{\pi}{2} \cdot L_{Li}$$

Mit (1) wird $S_{Vi} = 2 \cdot \frac{I_i}{L_T}$

B = Länge der äußeren Kontur einer Struktur

A = Fläche eines Schnittes oder eines Profils (area)

S_{Vi} = Oberfläche einer Struktur i bezogen auf das Einheitsvolumen
des untersuchten Objektes:
Oberflächendichte der Struktur i.

I = Anzahl der Durchstoßpunkte zwischen Testlinien und Oberflächen-
kontur einer Struktur.

T = Test-Größe

i = Index für Strukturen

(Zitiert aus dem Anleitungsbuch für den M.O.P. KM II (manuell-optischer
Bildanalysator) der Fa. Kontron)

Praktisches Vorgehen:

Wie im Kapitel 2. erwähnt, wurden von drei charakteristischen Ebenen
des Rückenmarkes Dünnschnitte hergestellt und unter dem Elektronen-
mikroskop Zeiss EM 10 Serienbilder mit einheitlichen Vergrößerungen
(1600-fach) angefertigt (Abb. 27). Die Bildplatten wurden mit Hilfe
eines Mikrofilm-Lesegerätes auf einen Bildschirm projiziert, auf dem
ein Strich-Raster aufgezeichnet war. Dieses Raster bestand aus
84 Strichen von je 2 cm Länge (Abb. 28). Die Schnittpunkte wurden
bei jeweils nur einer Einstellung pro Bildplatte und Zählvorgang ge-
zählt und nach der obenstehenden Formel ausgewertet (Tb1. 1-3).
Arithmetische Mittelwerte ($\bar{x}$) und Standardabweichungen (S_x) wurden
nach folgenden Formeln errechnet:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

$$S_x = \sqrt{s^2}$$

TABELLE:

1

FILM Nr.	1.MESSUNG		2.MESSUNG	
	Schnitt - punkte	S_{V_i}	Schnitt - punkte	S_{V_i}
2941(ven-	56	0,66	81	0,96
42 tral)	89	1,05	90	1,07
43	82	0,97	117	1,39
44	81	0,96	109	1,29
45	91	1,08	96	1,14
46	72	0,85	104	1,23
47	59	0,70	79	0,94
48	86	1,02	61	0,72
49	87	1,03	87	1,03
50	67	0,79	80	0,95
51	90	1,07	78	0,92
52 (late-	95	1,13	80	0,95
53 ral)	91	1,08	60	0,71
54	68	0,80	92	1,09
55	78	0,92	62	0,73
56	63	0,75	59	0,70
57	65	0,77	70	0,83
58	49	0,58	39	0,46
59	47	0,55	42	0,50
60	37	0,44	42	0,50
61(dorsal)	38	0,45	39	0,46

Ebene: 1 Medulla-cervical Bereich

1.Messung: $\bar{X} = 0,8842$ $S_x = 0,2734$ 2.Messung: $\bar{X} = 0,84047$ $S_x = 0,2162$

2. Ebene: Thorakal-Bereich

TABELLE:

2

FILM Nr.	1.MESSUNG		2.MESSUNG	
	Schnitt - punkte	S_{Vi}	Schnitt - punkte	S_{Vi}
3081 (ven- tral)	147	1,75	186	2,21
82	159	1,84	179	2,13
83	130	1,54	157	1,86
84	114	1,35	155	1,84
85	109	1,29	120	1,42
86	111	1,32	118	1,40
87 (late- ral)	67	0,79	77	0,91
88	74	0,88	71	0,84
89	59	0,70	56	0,66
90	69	0,82	86	1,02
91	46	0,54	60	0,71
92 (dor- sal)	79	0,94	80	0,95

Ebene: 2 Thorakal-Bereich

1.Messung: $\bar{X} = 1,1466$

$S_x = 0,42$

2.Messung: $\bar{X} = 1,3291$

$S_x = 0,5607$

TABELLE:

3

FILM Nr.	1.MESSUNG		2.MESSUNG	
	Schnitt - punkte	S_{Vi}	Schnitt - punkte	S_{Vi}
3021 (ven- tral)	159	1,89	113	1,34
22	139	1,65	132	1,57
23	116	1,38	105	1,25
24	104	1,23	120	1,42
25	135	1,60	134	1,59
26	159	1,89	151	1,79
27	166	1,97	150	1,78
29 (dor- sal)	110	1,30	118	1,40
30	74	0,88	53	0,63
34	118	1,40	119	1,41
35	137	1,63	123	1,46

Ebene: 3 Lumbal-Bereich

1.Messung: $\bar{X} = 1,5290$

$S_x = 0,3296$

2.Messung: $\bar{X} = 1,4218$

$S_x = 0,3129$

4. Diskussion

Am Tag 11 p.c. ist die Randschleierbildung (Marginalzone, Boulder Comitee, 1970) im Rückenmark von Mäuseembryonen voll im Gange. Die lichtmikroskopischen Befunde lassen schon Entwicklungsstadien unterscheiden, die das ventro-dorsale und das cranio-caudale Reifungsgefälle bestätigen (Abb. 1-12). Die Marginalschicht ist in der cervikalen Ebene viel weiter entwickelt als in der lumbalen Ebene, ebenso ist in der jeweiligen Ebene in der Grundplatte die Entwicklung weiter fortgeschritten als in der Flügelplatte.

In allen Ebenen, die wir untersucht haben, konnten wir radiäre Strukturen mit dem Elektronenmikroskop erkennen (Abb. 20), die wir in Anlehnung an Henrikson und Vaughn (1974) als unreife Astrozytenfortsätze deuten. Ebenso neigen wir zu der Ansicht, daß die marginale Glia von diesen unreifen Astrozytenfortsätzen gebildet wird. Die Tatsache, daß subependymale Mitosen schon in dieser Zeit stattfinden, die für die Glioblasten charakteristisch sind (Hinds, 1973; Vaughn, 1968), bekräftigen diese Ansicht. Wahrscheinlich können diese radiären Strukturen nur in ganz frühen Phasen (bis Tag 9 p.c.) den proliferierenden Neuroepithelzellen zugerechnet werden. Ramon Y Cajal konnte beim Hühnchenembryo in den frühen Phasen Übergangsformen darstellen, die sowohl radiäre Prozesse als auch Astrozyten bildeten (1952).

Beim Auswachsen von Nervenfasern (Abb. 17) aus der Grundplatte des Rückenmarkes fanden wir, daß ein Gliafortsatz den Nervenfasern immer vorangeht, wie auch Grainger und James (1970) auf-

grund ihrer in-vitro-Experimente beschrieben haben.

Auffällig ist das Auftreten von Interzellularlücken im Bereich des Randschleiers. Einige Autoren (Wechsler, 1966; Bergquist, 1968; Blechschmidt, 1960) halten diese Räume für Artefakte, die während der Präparation des Gewebes auftreten. Gegen diese Ansicht sprechen einige Überlegungen:

1. Die Fixierungsqualität müßte in Abhängigkeit von der Richtung und Geschwindigkeit des Eindringens des Fixierungsmittels in das Gewebe, dorsal optimaler sein als ventral. Tatsächlich aber finden sich die auffälligen Interzellularlücken fast ausschließlich in dem dorsalen Bezirk des Rückenmarkes.
2. Auch die lokalen Unterschiede im Auftreten dieser Lücken würden gegen einen allgemeinen Präparationsartefakt sprechen.

Wir möchten uns deshalb der Meinung von Caley und Pease (1971) anschließen, die die Interzellularlücken während der Entwicklung im ZNS für reelle und in vivo existierende Räume ansehen. Wenn das der Fall ist, muß ihnen eine große morphogenetische Bedeutung zugesprochen werden. Sie könnten nämlich als richtungsgebende Räume für das geordnete Wachsen der Axonenbündel dienen. Nach wie vor ist der Mechanismus des gerichteten Axonwachstums, der bei der immer wiederkehrenden Knüpfung be-

stimmter Areale bzw. bei der Zielfindung bestimmter Axonenbündel eine Rolle spielt, wenig bekannt. Es werden zwei Theorien diskutiert:

1. Die Theorie des Neurotropismus, die von Ramon y Cajal entwickelt wurde. Sie basiert auf der Hypothese der Chemotaxis, wonach in der Peripherie Stoffe gebildet werden sollen, die zu bestimmten Zeiten die wachsenden Nerven anlocken. Es finden sich wenig stichhaltige experimentelle Beweise für diese Theorie (Literatur bei Starck, Embryologie 3.A.).
2. Die Theorie der "contact guidance" von Weiss (1941), die besagt, daß die wachsende Nervenfaser solide Leitstrukturen benutzen. Nornes und Das (1972) erklären ebenfalls mit dieser Theorie das gerichtete Wachstum der zentralen Nervenfasern.

Das Auftreten von Interzellularräumen in unserem Material könnte eine Erklärungsmöglichkeit für diese Phänomene bieten. Die Axonenbündel könnten mechanisch relativ ungestört in eine bestimmte Richtung dirigiert werden. Man könnte deshalb von einem modifizierten Leitschienenmechanismus sprechen. Die oben beschriebenen radiären Fortsätze könnten auch solche Leitschienen darstellen. Solche Mechanismen würden auch die Theorie einer Histogeometrie wie Droogleevers-Fortuyn (1970) sie in seiner Arbeit entwickelt, unterstützen.

Die Morphologie hat Schwierigkeiten, quantitative Aussagen zu machen, was aber wichtig für die Erfassung teratogener Effekte und zur Aufstellung von Dosis-Wirkungskurven ist. Um hier exakte Grundlagen zur Verfügung zu haben, versuchten wir, Parameter des Randschleiers morphometrisch zu erfassen. Auf diesem Hintergrund lassen sich dann Störungen des Axonenwachstums bzw. der Fortsatzproliferation überhaupt oder andere Reifungsvorgänge viel exakter erfassen. Darüberhinaus vermitteln solche Untersuchungen neue Informationen über das Verhalten der Fortsätze in verschiedenen Entwicklungsphasen. Diese Untersuchungen zeigen, daß die Membranoberfläche von den Fortsätzen für ein bestimmtes Areal berechnet werden kann (S_{Vi}). Wie in Tbl. 1 dargestellt, beträgt der arrhythmatische Mittelwert $\bar{x}$ von der Summe der Membranoberflächen auf der medulla-cervikalen Ebene $S_{Vi} = 0,8842$. In der thorakalen Ebene haben wir einen Mittelwert von $S_{Vi} = 1,1466$ und auf der lumbalen Ebene einen Mittelwert von $S_{Vi} = 1,5290$ (Tbl. 2 und 3). Daraus kann geschlossen werden, daß die Membranoberfläche pro bestimmten Areal auf der medulla-cervicalen Ebene geringer ist als in der thorakalen oder lumbalen Ebene. Dies entspricht auch unseren Vorstellungen, wonach die caudalen Abschnitte im Rückenmark noch viele, aber im Kaliber winzige Fortsätze bilden, während die cranialen Abschnitte diese Proliferationsphase z.T. schon hinter sich haben und die Fortsätze mehr an Dicke zunehmen. Das heißt, es sind in dem weniger entwickelten Gebiet in einem bestimmten Areal mehr und kleinere Fortsätze und damit auch mehr Membranoberfläche zu finden, als in einem schon entwickelterem Gebiet.

Wie die Tabellen 1 - 3 zeigen, können wir an Hand dieser morphometrischen Methode eindeutig ein Reifungsgefälle von cranial nach caudal numerisch festhalten. Diese Methode könnte bei Vergleichsuntersuchungen zwischen normalem und gestörtem Wachstum des Rückenmarkes eine sinnvolle Anwendung finden. Wohl aber ist die Methode nicht empfindlich genug, um signifikante Aussagen über die Entwicklungsunterschiede zu machen, die in einer Ebene des RM auftreten.

Um auch diese feinen Unterschiede in einer Ebene zu entdecken, würde man mit Hilfe der Planimetrie oder mit Hilfe von halb-automatischen (manuell-optischen) morphometrischen Systemen untersuchen müssen.

5. Zusammenfassung

Es wurde die Bildung der Marginalzone (spätere weiße Substanz) während der Rückenmarksentwicklung beim Mäuseembryo am Tag 11 p.c. licht- und elektronenmikroskopisch untersucht.

An Hand der elektronenoptischen Aufnahmen wurde eine quantitative morphometrische Analyse der Marginalzone in verschiedenen Ebenen des Rückenmarkes durchgeführt. Ein cranio-caudales Reifungsgefälle konnte numerisch festgehalten werden.

Das Auftreten von nicht artefiziell bedingten Interzellularlücken wurde als ein wahrscheinlich wichtiger Bestandteil der normalen embryonalen Entwicklung gedeutet, da diesen Räumen beim gerichteten Fortsatzwachstum eine entscheidende Bedeutung zukommen dürfte.

Außerdem wurde die wichtige Rolle des frühembryonalen Gliagewebes während der Rückenmarksentwicklung dargestellt und diskutiert.

Damit können aussagen gemacht werden über 1: das Problem des gerichteten Fortsatzwachstums, 2. das Problem der Gliadifferenzierung und 3. die Möglichkeit einer morphometrischen Analyse.

Literaturverzeichnis

- ANGEVINE, J.B. Jr.: Autoradiographic study of cell migration during
and histogenesis of cerebral cortex in the mouse.
SIDMAN, R.L. Nature (London) 192, 766 - 768 (1961).
- : Autoradiographic study of histogenesis in the
cerebral cortex of the mouse.
Anat. Rec. 142, 210 (1962).
- BERGQUIST, H. : Über die Differenzierung des Neuralrohres, be-
sonders des Stratum zonale.
Z. Zellforschung 86, 401 - 421 (1968).
- BERGQUIST, H. : Notes on the early morphogenesis and histogenesis
and of the central nervous system in the vertebrates.
KÄLLÉN, B. J. Comp. Neurol. 100, 627 - 659 (1954).
- BLECHSCHMIDT, E. : Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Neural-
rohr von Hühnerembryonen.
2. Anat. Entwickl.-Gesch. 121, 434 - 445 (1960).
- BILLINGS, S.M. : Concepts of nerv fibre development.
J.Hist.Biol. 4/2, 275 - 305 (1971).
- BOULDER Committee, The: Embryonic vertebrate central nervous system: revised
terminology.
Anat. Rec. 166, 257 - 262 (1970).
- BUNGE, R.P., : An electron microscope study of cultured rat
BUNGE, M.B. spinal cord.
and J. Cell Biol. 24, 163 - 191 (1965).
- PETERSON, E.R.

- CALEY, D.W. : Differentiation of the neural elements of the cerebral cortex in the rat. In: Cellular aspects of neural growth and differentiation. Ed. by Pease, D.C. University of California Press. UCLA Forum Med. Sci.No 14 Los Angeles, 1971.
- DROOGLEEVER Fortuyn J. : Histogeometry of the nervous system. Europ. Neurol. (Basel) 4, 193 - 209 (1970).
- COGHILL, G.E. : Rates of proliferation and differentiation in the central nervous system of Amblystoma. J. Comp. Neur. 37, 71 - 122 (1924).
- FUJITA, S. : Kinetics of cellular proliferation. Exp. Cell Res. 28, 52 - 80 (1962).
- : The matrix cell and cytogenesis in the developing central nervous system. J. Comp. Neurol. 120, 37 - 43 (1963).
- : Analysis of neuron differentiation in the central nervous system by tritiated thymidine autoradiography. J. Comp. Neurology 122, 311 - 329 (1964).
- and : Electron microscopic studies on the differentiation of the ependymal cells and the glioblasts in the spinal cord of domestic fowl. FUJITA, H. Z. Zellforschung 64, 262 - 272 (1964).

- GAZE, R.M. : The development, structure and composition of
and the optic nerve of *xenopus laevis* (Daudin)
PETERS, A. Quart. I. Exp. Physiol. 46, 299 - 310 (1961).
- GRAINGER, F., : An electron microscopic study of the early
JAMES, D.W. outgrowth from chick spinal cord in vitro.
and Z. Zellforschung Mikr. Anat. 90, 53 - 67
TRESMAN, R.L. (1968).
- GRAINGER, F. : Association of glial cells with the terminal parts
and of neurite bundles extending from chick spinal
JAMES, D.W. cord in vitro.
Z. Zellforschung. Mikro. Anat. 108, 93 - 104
(1970).
- GUILLERY, R.W., : Relationships between glial and neuronal elements
SOBKOWICZ, H.M. in the development of long term cultures of the
and spinal cord of the fetal mouse.
SCOTT, G.L. J. Comp. Neurol. 140, 1 - 34 (1970).
- HAMBURGER, V. : The mitotic patterns in the spinal cord of the
chick and their relation to histogenetic processes.
J. Comp. Neur. 88, 221 - 284 (1948).
- HENNING, A. : Grundprobleme der Stereologie und Wege zu ihrer
Lösung. - Berichte des I. Int. Kongr. f. Stereo-
logie, Beitrag 6, 1 - 23, Wien 1963.
- HENRIKSON, C.K. : Fine structural relationships between neurites and
and radial glial processes in developing mouse spinal
VAUGHN, J.E. cord.
J. Neurocytol. 3, 659 - 675 (1974).

- HINDS, J.W. : Cell proliferation in the neural tube: An electron
and microscopic and Golgi analysis in the mouse cerebral
RUFFETT, T.L. vesicle.
Z. Zellforschung 115, 226 - 264 (1971).
- KAUFFMANN, S.L. : An autoradiographic study of the generation cycle
in the ten-day mouse embryo neural tube.
Exp.Cell Res. 49, 420 - 424 (1968).
- KILLEN, B. : DNA synthesis in the embryonic chick central
and nervous system.
VALMIN, K. Z. Zellforschung 60, 491 - 506 (1963).
- KINGSBURY, B.F. : On the so-called law of antero-posterior de-
velopment.
Anat. Rec. 33, 73 - 87 (1926).
- LANGMAN, J. : Histogenesis of the central nervous system. In:
The structure and function of nervous tissue.
Vol.I p. 33 - 66 Ed. by G.H. Bourne, New York,
Academic 1968.
- and : Formation and migration of neuroblasts in the
HADEN, C.C. spinal cord of the chick embryo.
J. Comp. Neurol. 138, 419 - 432 (1970).
- and : Behaviour of neuroepithelial cells during closure
GUERRANT, R. L. of the neural tube.
J. Comp. Neurol. 127, 399 - 412 (1966).
- and
FREEMAN, B.G.
- LYSER, K.M. : Early differentiation of motor neuroblasts in the
chick embryo as studied by electron microscopy.
I. General aspects. Develop. Biol. 10, 433 - 466
(1964).

- LYSER, K.M. : Early differentiation of motor neuroblasts in the chick embryo as studied by electron microscopy. II. Microtubules and Neurofilaments. *Develop. Biol.* 17, 117 - 142 (1968).
- : Early differentiation of the chick embryo spinal cord in organ culture. Light and electron microscopy. *Anat. Rec.* 169/1, 45 - 63 (1971).
- LUSE, S. : Electron microscopic observations on the central nervous system. *J. biophys. biochem. Cytol.* 2, 531 - 542 (1956).
- : Formation of myelin in the central nervous system of mice and rats, as studied with electron microscope. *J. biophys. biochem. Cytol.* 2, 777 - 784 (1956).
- MARTIN, A.H. : The development of the spinal cord examined by and autoradiography.
- LANGMAN, J. : *J. Embryol. Exptl. Morphol.* 14, 25 - 35 (1965).
- MATURANA, H.R. : The fine anatomy of the optic nerve of Anurans - an electron microscope study. *J. biophys. biochem. Cytol.* 7, 107 - 120 (1960).
- MELLER, K., : The differentiation of endoplasmic reticulum in ESCHNER, J. developing neurons of the chick spinal cord. *Z. Zellforschung* 69, 189 - 197 (1968).
- GLEES, P.

- NAWAR, N.N.Y., : Quantitative studies on the prenatal growth of
SAKLA, F.B. the spinal cord of the albino mouse.
and Acta Anat. 88, 202 - 216 (1974).
MAHHRAN, Z.Y.
- NORNES, H.O., : Temporal pattern of neurogenesis in spinal cord:
and cytoarchitecture and directed growth of axons.
DAS, G.D. Proc. Nat. Acad. Sci.U.S.A. 69, 1962 - 66 (1972).
- PEASE, D.P.: Pease, D.P. (Ed.) Cellular Aspects of Neural
Growth and Differentiation.
UCLA Forum Med. Sci.No. 14 Univ. of California
Press, Los Angeles (1971).
- PETERS, A.: The formation and structure of myelin sheaths in
the central nervous system.
J. bioph. biochem. Cytol. 8, 431 - 446 (1960).
- : The cortical plate and molecular layer of the late
and rat fetus.
FELDMAN, M. Z.Anat.Entw.Gesch. 141, 3 - 37 (1973).
- POIRER, L.J.: Experimental and anatomical investigation of the
and lateral spinothalamic and spinotectal tracts.
BERTRAND, C. J. Comp. Neurol. 102, 745 - 757 (1955).
- ROBERTIS de, E.,: Cellular mechanism of myelination in the central
GERSCHENFELD, H.M. nervous system.
and J. biophys.biochem. Cytol. 4, 651 - 658 (1958).
WALD, F.
- RAKIC, P.: Neuron-glia relationship during granule cell
migration in developing cerebellar cortex. A
Golgi and electron microscopic study in Macacus
rhesus. - 141, 283 - 312 (1971).

- RAKIC, P.: Sequence of developmental abnormalities leading
and to granule cell deficit in cerebellar cortex of
SIDMAN, R.L. Weaver mutant mice.
J. Comp. Neurol. 152, 103 - 132 (1973).
- RAMON Y CAJAL, S.: (1911) Histologie du système nerveux de l'homme et
des vertébrés.
Instituto Ramon y Cajal, Madrid (1952).
- : Studies in vertebrate Neurogenesis
(Translated by GUTH, L.)Springfield: Charles C.
Thomas (1960).
- SALTYKOV, S.A.: Stereometrische Metallographie.
Moskau: Metallurgizdat (1958).
- SAUER, F.C.: Mitosis in the neural tube.
J. Comp. Neur. 62, 377 - 405 (1935).
- : The cellular structure of the neural tube.
J. Comp. Neur. 63, 13 - 23 (1935).
- SAUER, M.E.: Autoradiographic study of interkinetic nuclear
and migration in the neural tube.
- WALKER, B.E. Proc. Soc. Biol. Med. 101, 557 - 560 (1959).
- SHERRINGTON, C.S.: Remarks on the dorsal spinocerebellar tract.
and J. Physiol. 29, 188 - 194 (1903).
- LASSETT, E.E.
- SHIMADA, M.: Cell proliferation, migration and differentiation
and in the cerebral cortex of the golden hamster.
- LANGMAN, J. J. Comp. Neur. 139, 227 - 244 (1970).

- SIDMAN, R.L.: Cell proliferation and migration in the primitive
 MIALE, I.L. ependymal zone; an autoradiographic study of
 and histogenesis in the nervous system.
 FEDER, N. Exp. Neurol. 1, 322 - 333 (1959).
- SKOFF, R.P.: Fine structure of dendritic and axonal growth cones
 and in embryonic chick spinal cord.
 HAMBURGER, V. J. Comp. Neur. 153, 107 - 148 (1974).
- SMART, I.H.M.: Proliferative characteristics of the ependymal
 layer during the early development of the
 spinal cord in the mouse.
 J. Anat. 111, 365 - 380 (1972).
- STARCK, D.: Embryologie 3 A. Georg Thieme Verlag,
 Stuttgart (1974).
- TENNYSON, V.M.: The fine structure of the axon and growth cone
 of the dorsal root neuroblasts of the rabbit
 embryo.
 J. Cell Biol. 44, 62 - 79 (1970).
- VAUGHN, J.E.: An electron microscopic Analysis of gliogenesis
 in rat optic nerves.
 Z. Zellforschung 94, 293 - 324 (1969).
- WECHSLER, W. : Elektronenmikroskopische Befunde am Neuralrohr
 und von Hühnerembryonen.
 MELLER, K. Acta Neuropath. 2, 491 - 496 (1963).
- : Elektronenmikroskopischer Beitrag zur Histogenese
 der weißen Substanz des Rückenmarkes von Hühner-
 embryonen.
 Z. Zellforschung 74, 232 - 251 (1966) a.

- WECHSLER, W.: Elektronenmikroskopischer Beitrag zur Nervenzelldifferenzierung und Histogenese der grauen Substanz des Rückenmarkes von Hühnerembryonen. Z. Zellforschung 74, 401 - 422 (1966) b.
- WEIBEL, E.R.: In: Quantitative methods in Morphology. Edited by Weibel, E.R. and Elias, H., Springer Verlag, Berlin 1967.
- WEISS, P.: Nerve Patterns: The mechanics of nerve growth. Growth, third Growth Symposium 5, 163 - 203 (1941).
- WENGER, E.L.: An experimental analysis of relations between parts of the brachial spinal cord of the embryonic chick. J. Exp. Zool. 114, 51 - 86 (1950).
- WINDLE, W.F.: Neurofibrillar development in the central nervous system of chick embryos up to 5 days incubation. AUSTIN, M.F. J. Comp. Neur. 63, 431 - 463 (1936).
- : The first neurofibrillar development in albino rat embryos. BAXTER, R.E. J. Comp. Neur. 63, 173 - 187 (1936).
- YOSS, R.E.: Studies of the spinal cord. Part I. Topographic localization within the dorsal spino-cerebellar tract in Macaca mulatta. J. Comp. Neur. 97, 5 - 20 (1952).
- : Studies of the spinal cord. Part II. Topographic localization within the ventral spino-cerebellar tract in the macaque. J. Comp. Neur. 99, 613 - 658 (1953).

Abb. 1 bis 4 .

Rückenmarksquerschnitt im medulla-cervical Bereich.

Übersicht (Abb. 1) Dorsal-Flügelplatte (Abb. 2) Lateral - Seitenplatte - (Abb. 3) Ventral - Grundplatte - (Abb. 4).

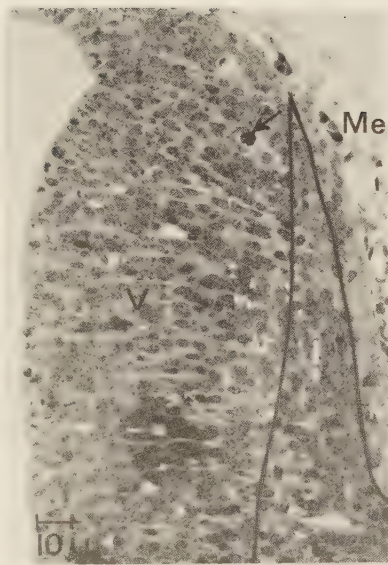
Zentralkanal (Z). Ventrikulärschicht (V). Intermediärschicht (I).

Marginalschicht (M). Kapillare mit Erythroblast (→). Mesenchym (Me).

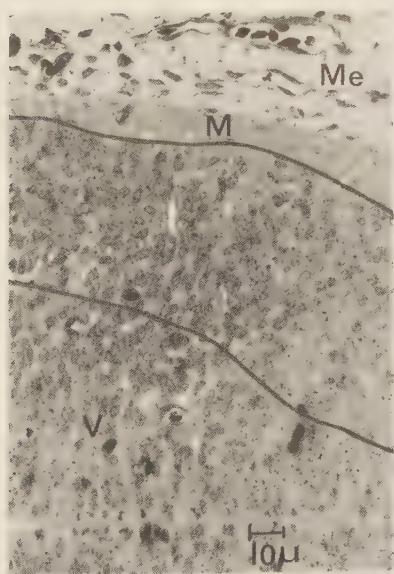
Vergrößerung 1 / 350 und 1 : 700



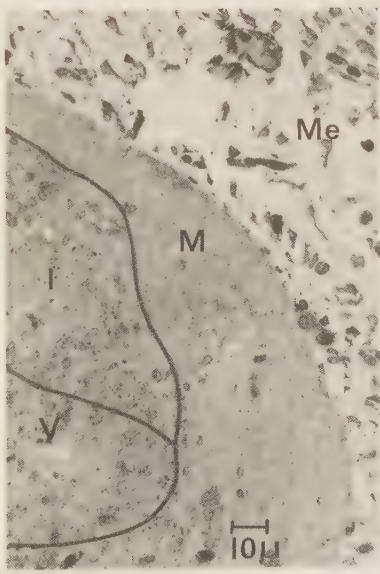
1



2



3



4

Abb. 5 bis 8 .

Rückenmarksquerschnitt im thorakalen Bereich.

Übersichtsbild (Abb. 5 und 7).

Flügelplatte (Abb. 6)

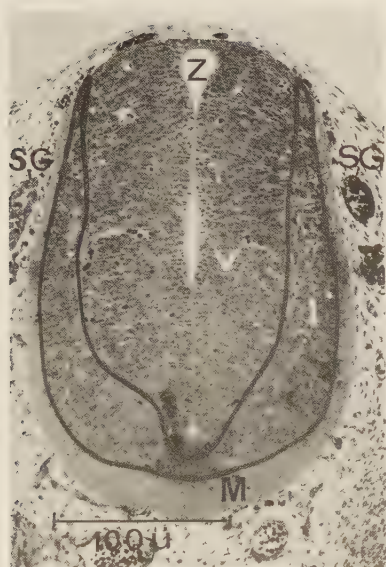
Grundplatte (Abb. 8).

Zentralkanal (Z). Ventrikulärschicht (V). Intermediärschicht (I).

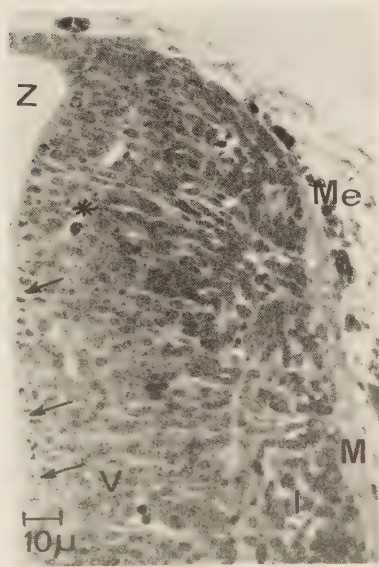
Marginalschicht (M). Ventrikuläre Mitosen ($\rightarrow$). Mesenchym (Me).

Kapillare mit Erythroblast (x). Spinalganglion (SG).

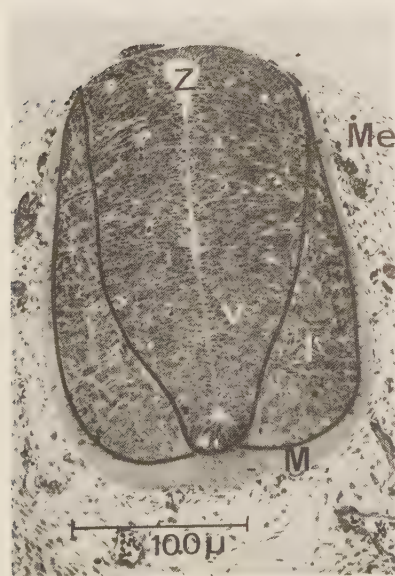
Vergrößerung 1 : 350 und 1 : 700



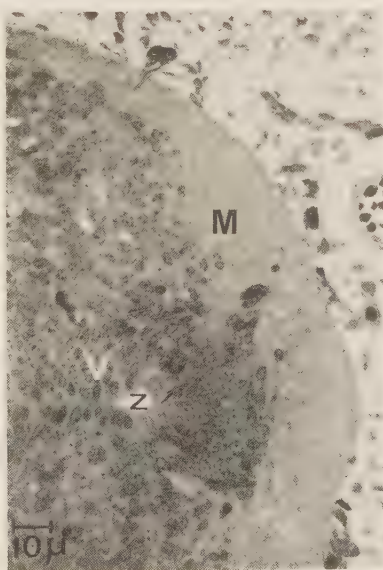
5



6



7



8

Abb. 9 bis 12

Rückenmarksquerschnitt im lumbo-sakralen Bereich.

Übersichtsbild (Abb. 9). Flügelplatte (Abb. 10). Seitenplatte (Abb. 12).

Grundplatte (Abb. 11) Zentralkanal (Z). Ventrikulärschicht (V).

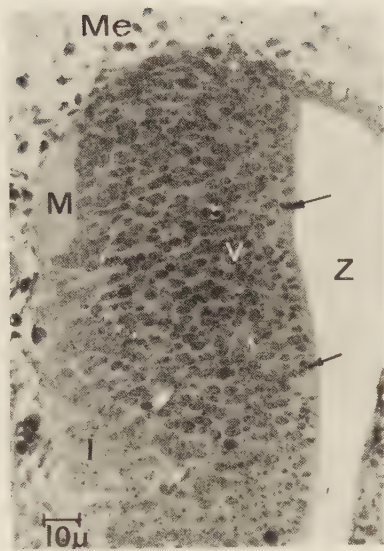
Intermediärschicht (I). Marginalschicht (M). Ventrikuläre Mitosen (➡).

Spinalganglion (SG).

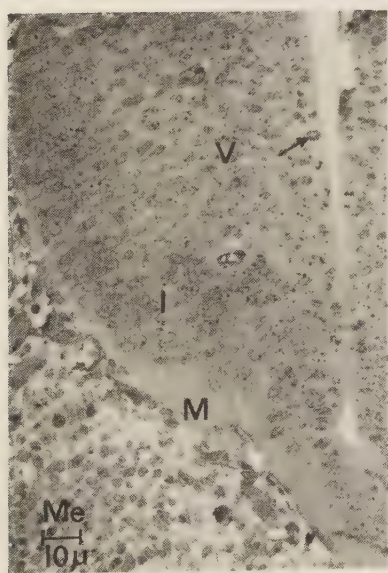
Vergrößerung 1 : 350 und 1 : 700



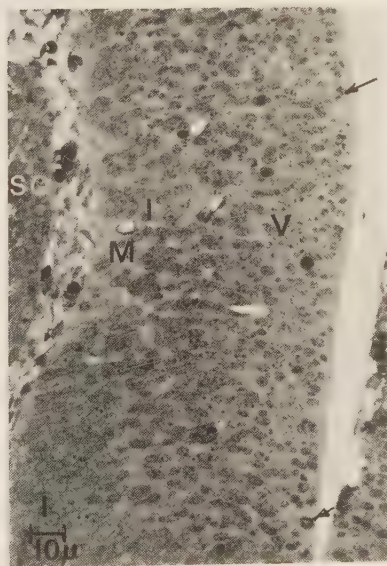
9



10



11



12

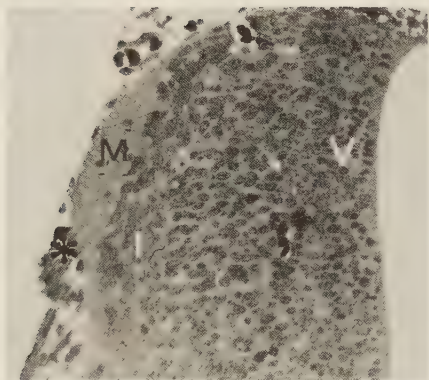
Abb. 13 und 14

Bildung der dorsalen Wurzel in der Flügelplatte (x).

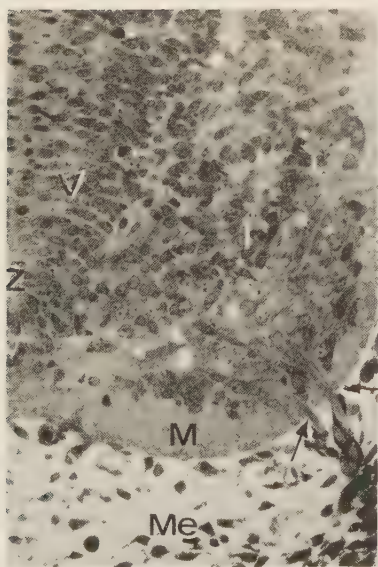
Auswachsen von Axonen aus der Grundplatte (→). Marginalschicht (M).

Intermediärschicht (I). Ventrikulärschicht (V). Mesenchym (Me).

Vergrößerung 1 : 700



13

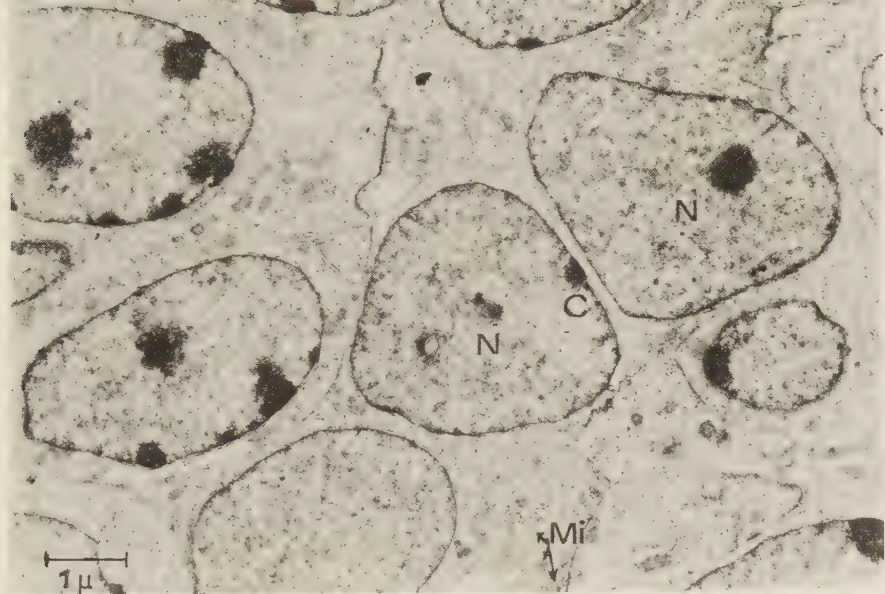


14

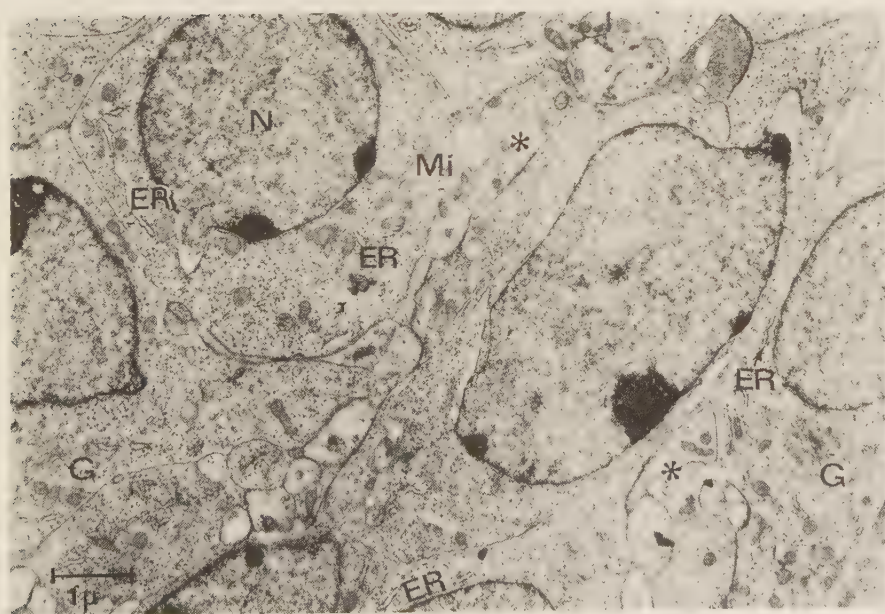
Abb. 15 und 16

Neuroblasten aus der Intermediärschicht. Nucleus (N). Randständiges Kernchromatin (C). Mitochondrien (Mi). Ribosomen (→). Endoplasmatisches Retikulum (ER). Golgi Apparat (G). Optisch leere Vesikel (*).

Vergrößerung 1 : 16 000



15



16

Abb. 17

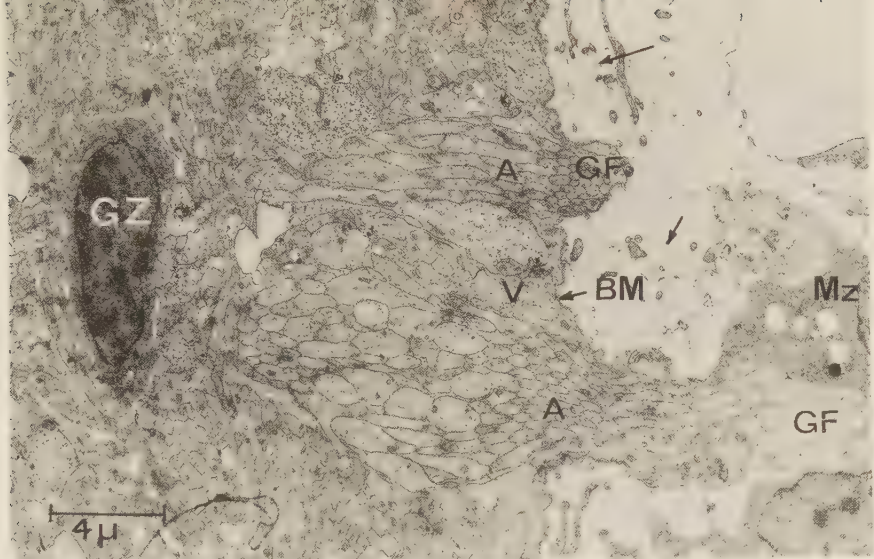
Auswachsen von Axonenbündeln (A) aus der Grundplatte. Basalmembran (BM). Vorhutartig prominenter Gliafortsatz (GF). Mesenchymzellen (MZ). Kollagene Fibrillen (→). Mitochondrien (Mi). Vesikel (V). Gliazelle (GZ).

Vergrößerung 1 : 5 700

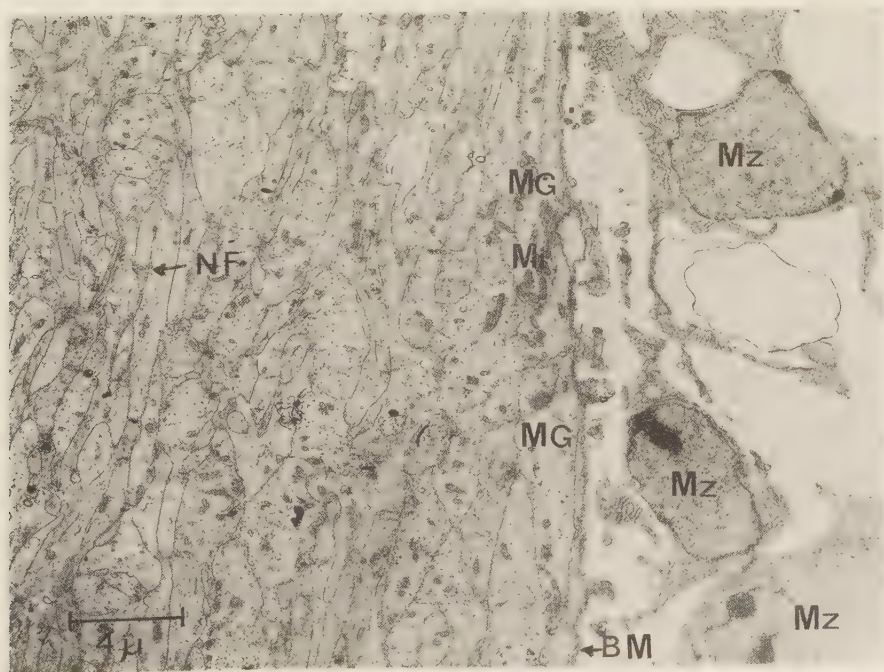
Abb. 18

Querschnitt durch das Rückenmark im medulla-cervical Bereich. Grundplatte, Marginalschicht. Basalmembran (BM). Mesenchymzellen (MZ). Marginale Glia (MG). Mitochondrien (Mi). Neurofilamente (NF). Wachstumskolben (x).

Vergrößerung 1 : 5 700



17



18

Abb. 19

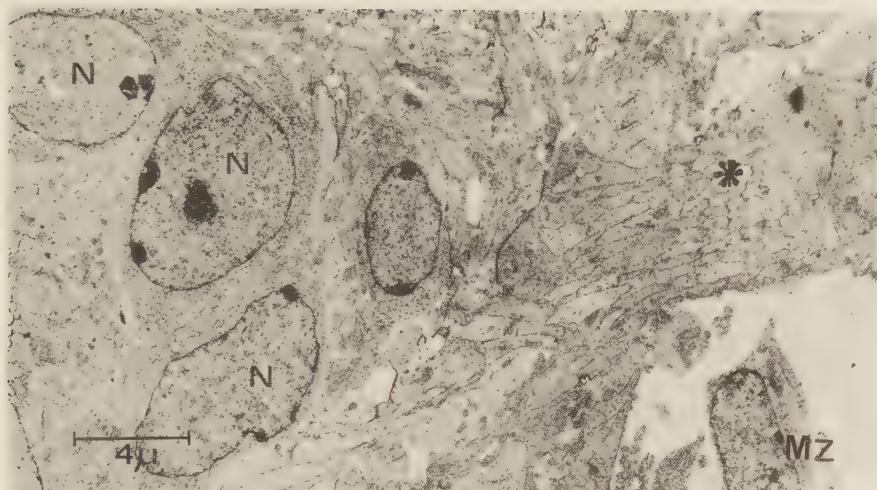
Bildung des Radix dorsalis im Flügelplattenbereich in der thorakalen Ebene (✱). Kerne der Neuroblasten (N). Mesenchymzelle (MZ).

Vergrößerung 1 : 5 700

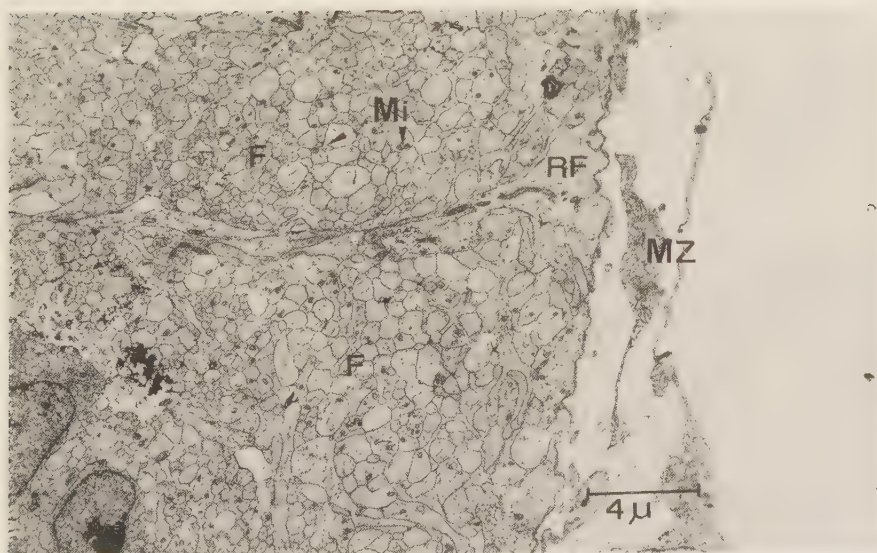
Abb. 20

Querschnitt durch das Rückenmark in der thorakalen Ebene. Grundplatte. Radiärer Fortsatz (RF). Basalmembran (BM). Mitochondrien (Mi). Axonale und dendritische Fortsätze (F). Streng epitheliale Organisation, ohne Interzellularlücken. Mesenchymzelle (MZ).

Vergrößerung 1 : 5 700



19



20

Abb. 21

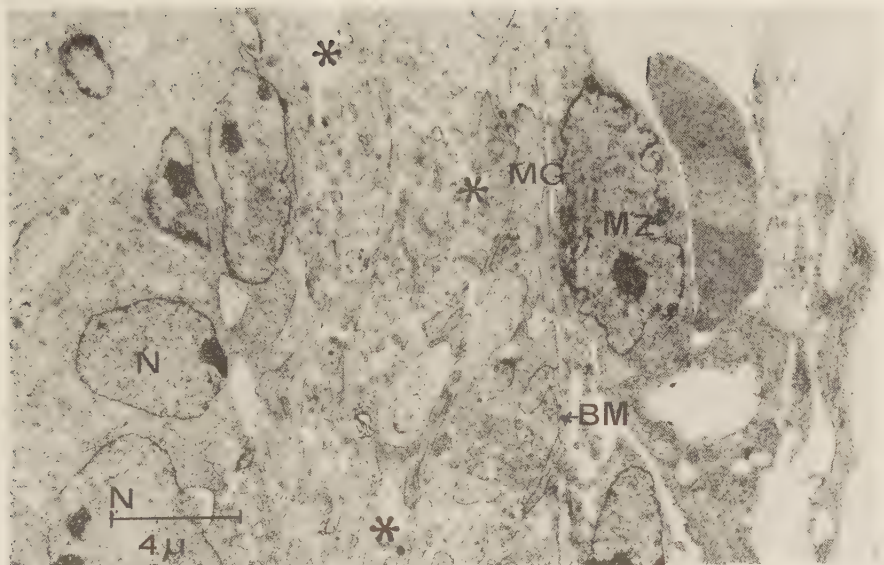
Querschnitt durch das Rückenmark in der thorakalen Ebene. Flügelplatte, Marginalschicht. Reichlich Interzellularlücken (x). Mesenchymzelle (MZ). Basalmembran (BM). Marginale Glia (MG). Neuroblasten (N).

Vergrößerung 1 : 6 520

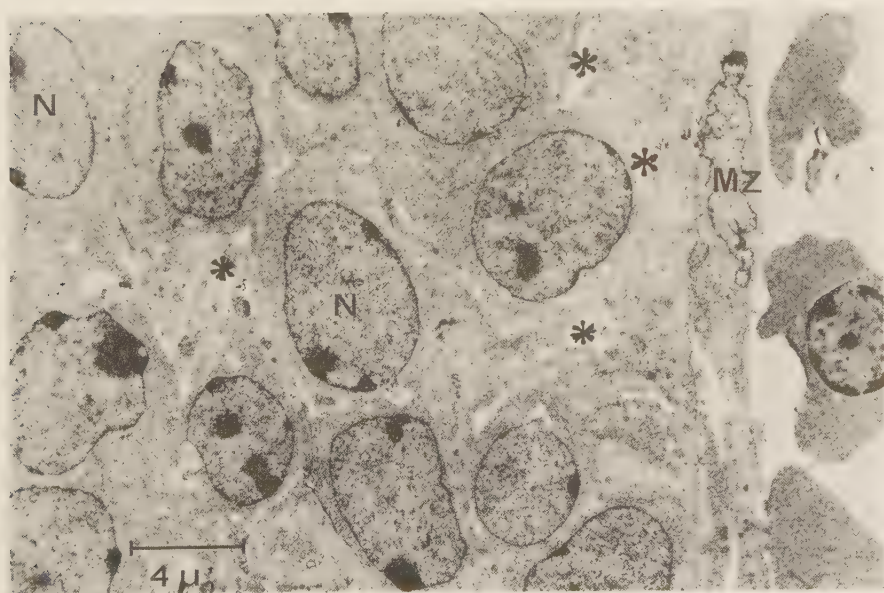
Abb. 22

Aufnahme von derselben Ebene wie Abb. 21. Marginalschicht im Seitenplattenbereich. Ebenfalls reichlich Interzellularlücken (x). Mesenchymzelle (MZ). Neuroblasten (N).

Vergrößerung 1 : 5 700



21

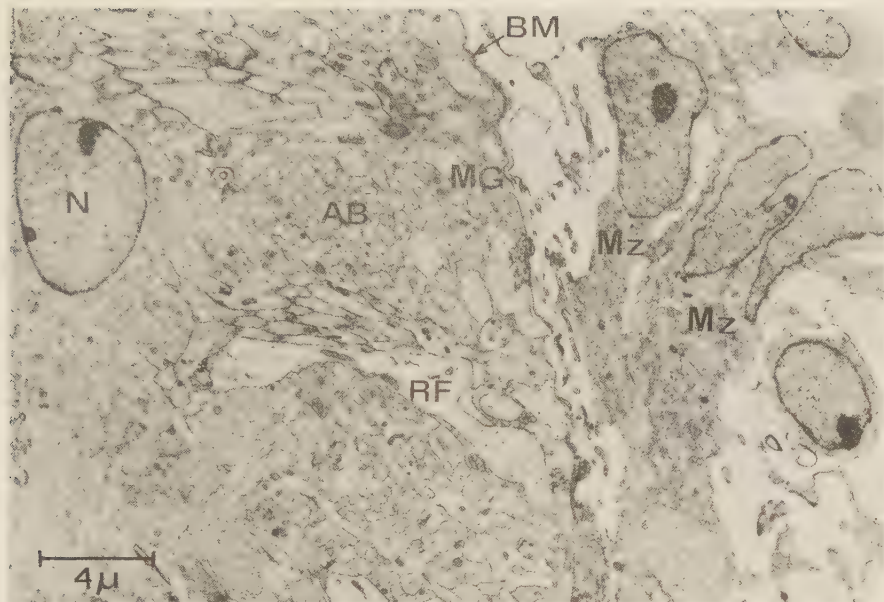


22

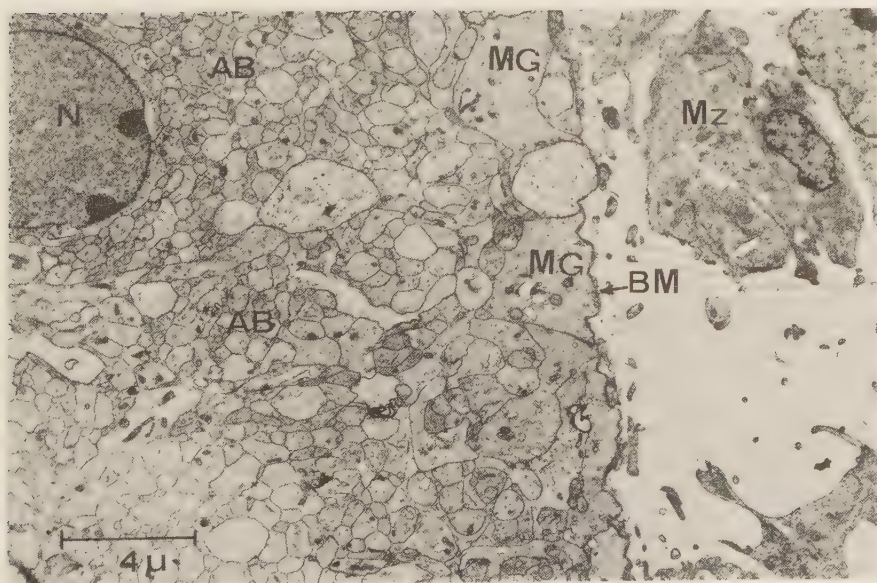
Abb. 23 und 24

Querschnitt durch das Rückenmark in der lumbo-sakral Ebene. Grundplatte, Marginalschicht. Mesenchymzellen (MZ). Basalmembran (BM). Marginale Glia (MG). Radiärer Fortsatz (RF). Axonenbündel (AB). Kerne der Neuroblasten (N).

Vergrößerung 1 : 5 700 und 1 : 6 520



23

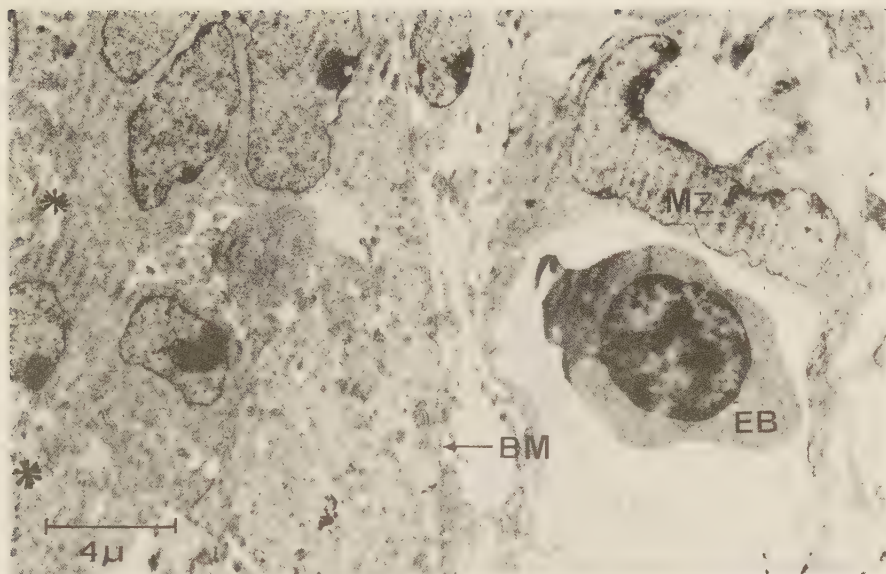


24

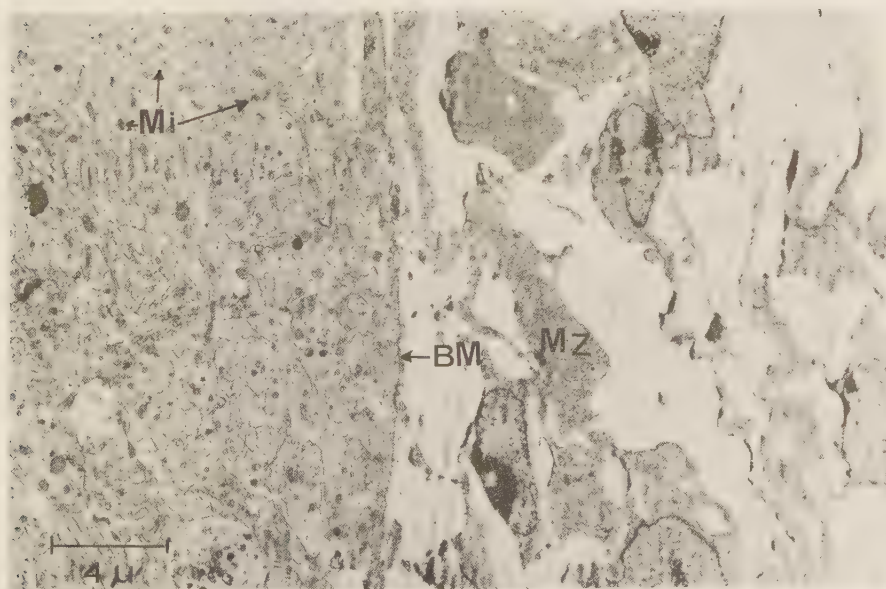
Abb. 25 und 26

Querschnitt durch das Rückenmark in der lumbo-sakral Ebene.
Flügelplatte, Marginalschicht. Auftreten von Interzellu-
lücken (*). Mesenchym. Basalmembran (BM). Mitochondrien (Mi).
Mesenchymzelle (MZ). Erythroblast (EB).

Vergrößerung 1 : 6 520 und 1 : 5 700



25



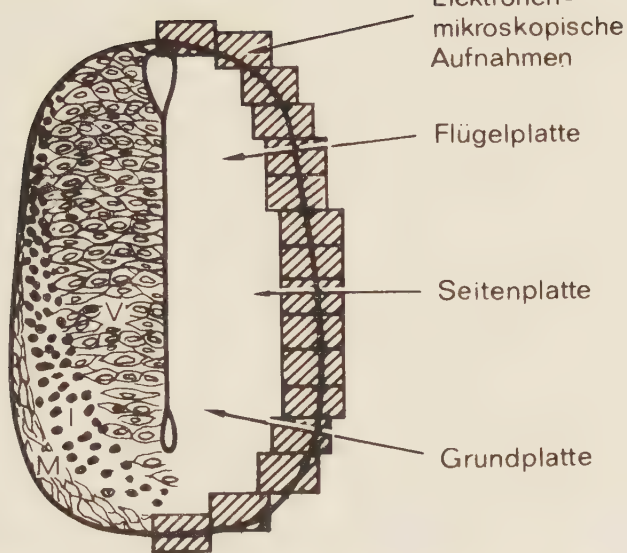
26

Abb. 27

Schema zur Herstellung der Serienbilder von der Marginalzone des Rückenmarkes. Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen haben eine einheitliche Vergrößerung von 1 : 1 630. Ventrikulärzone (V) Intermediärzone (I) Marginalzone (M).

Abb. 28

Das Mikrofilm-Lesegeät mit der Strichplatte nach Weibel.
84 Striche.



27



28

Herrn Professor Dr. Hans-Joachim Merker danke ich herzlich für die Überlassung des Themas und für die freundliche Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit.

Weiterhin danke ich allen Mitarbeitern des Anatomischen Institutes der Freien Universität Berlin, besonders Frau U. Krüger, für die technische Unterstützung bei der Erstellung dieser Arbeit.

L e b e n s l a u f

Am 14. 3. 1944 wurde ich als Sohn des Diplomingenieurs Nikolaus Inoka und seiner Ehefrau Edith Inoka, geb. Horvát, in Budapest/Ungarn geboren.

In Budapest besuchte ich die Allgemeinbildende Schule. Im November 1956 emigrierte ich mit meiner Familie in die Bundesrepublik Deutschland, wo ich 1963 an dem Exil-Ungarischen Gymnasium in Kastl b. Amberg die Reifeprüfung ablegte. Im November 1963 begann ich mein Medizinstudium an der Freien Universität Berlin, der ich ununterbrochen bis zum Staatsexamen (25. 8. 1970) angehört habe.

Meine Medizinalassistentenzeit verbrachte ich im Klinikum Steglitz (Pathologie) und im Städt. Wenckebach-Krankenhaus. Hier war ich auch nach meiner Approbation (Februar 1972) als chirurgischer Assistent 15 Monate tätig.

Seit Oktober 1973 arbeite ich als wissenschaftlicher Assistent am Anatomischen Institut der Freien Universität Berlin

